



# Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Amazônia Ocidental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental**

*Everton Rabelo Cordeiro  
Inocencio Junior de Oliveira  
Maria Geralda de Souza  
Ronaldo Ribeiro de Moraes  
Editores Técnicos*

**Embrapa**  
*Brasília, DF*  
**2018**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Amazônia Ocidental**

Rodovia AM-010, Km 29,  
Estrada Manaus/Itacoatiara,  
Manaus, AM  
69010-970  
Caixa Postal 319  
Fone: (92) 3303-7800  
Fax: (92) 3303-7820  
www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo  
conteúdo e edição**  
Embrapa Amazônia Ocidental

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*  
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*  
Membros: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira e Ricardo Lopes*

Revisão de texto  
*Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica  
*Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa*  
(CRB 11/420)

Capa, projeto gráfico e editoração eletrônica  
*Gleise Maria Teles de Oliveira*

**1ª edição**  
Publicação digitalizada (2018)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

Embrapa Amazônia Ocidental.

---

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (14. : 2017: Manaus, AM). Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental; editores, Everton Rabelo Cordeiro.. [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

PDF (224 p.).

ISBN 978-85-7035-843-1

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Cordeiro, Everton Rabelo. II. Oliveira, Inocencio Junior de. III. Souza, Maria Geralda de. IV. Moraes, Ronaldo Ribeiro de. V. Título. VI. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 630.72

# Indução de Calos Embrionários em Embriões Zigóticos de Progênes de RC1 (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*) x *Elaeis guineensis*

Cibelle Azamora dos Santos<sup>1</sup>

Pamela Keiko Harada<sup>2</sup>

Ricardo Lopes<sup>3</sup>

Regina Caetano Quisen<sup>4</sup>

**Resumo** – Este trabalho teve como objetivo avaliar a indução e proliferação de calos embrionários em embriões zigóticos de progênes RC1 (HIE F1 x palma-de-óleo). Embriões zigóticos cultivados por 90 dias em meios MS e Y3 com 2,4-D e picloram (450  $\mu$ M) foram subcultivados para meio MS e Y3 com 40  $\mu$ M das auxinas combinadas com 2iP (0 e 10  $\mu$ M). As culturas apresentaram formação e crescimento lentos de calos primários, não sendo observada diferença estatística significativa para nenhuma das variáveis avaliadas para os fatores meios de cultura e as auxinas (2,4-D e picloram) e suas interações ao final de 90 dias de cultivo. Aos 150 dias, o picloram a 40  $\mu$ M suplementado com 2iP foi superior à auxina 2,4-D em meio de multiplicação,

---

<sup>1</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

<sup>2</sup>Biotecnóloga, analista da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

<sup>4</sup>Engenheira florestal, D.Sc. em Agronomia (Produção Vegetal), pesquisadora da Embrapa Floresta, Colombo, PR.

favorecendo a proliferação de calos primários, assim como a formação de estruturas de potencial embriogênico, seja em meio MS, seja em Y3.

**Palavras-chave:** embriogênese somática, palma-de-óleo-africana, caiaué.

## **RC1's Progenies (*Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera*) x Guinean *Elaeis*) by Embryogenesis Callus Induction**

**Abstract** – The objective of this work was to evaluate the induction and proliferation of embryogenic calli in zygotic embryos of RC1 progenies (HIE F1 x oil palm). Zygote embryos cultured for 90 days on MS and Y3 medium with 2,4-D and (450  $\mu$ M) were transferred to basal medium with 40  $\mu$ M auxin combined with 2iP (0 and 10  $\mu$ M). The primary calluses presented slow growth formation. At the end of 90 days of cultivation, no significant statistical difference was observed for any of the variables evaluated for culture medium and auxins and their interactions. In the medium of multiplication at 150 days, the picloram was superior to 2,4-D, favoring the proliferation of primary calli, as well as the formation of embryogenic potential structures, either in MS or Y3.

**Keywords:** somatic embryogenesis, oil palm, caiaué.

## Introdução

O caiaué, dendezeiro-americano ou palma-de-óleo-americana (*Elaeis oleifera*), constitui-se na única fonte atualmente disponível de tolerância ao amarelecimento-fatal (AF), considerado grande ameaça à dendeicultura latino-americana em razão do alto grau de letalidade. Neste sentido, o Programa de Melhoramento Genético do Dendezeiro pertencente à Embrapa Amazônia Ocidental tem se dedicado fortemente ao desenvolvimento de cultivares resultantes da hibridação da palma-de-óleo-africana (*E. guineensis*) com o caiaué. Dentre as metodologias aplicadas destaca-se a hibridação via retrocruzamentos, que consiste em cruzar a palma-de-óleo-africana (genitor recorrente) e o caiaué (doador), que geram progênies de retrocruzamento (RC) de elevada variabilidade e superiores até àquelas intraespecíficas, introduzindo as características do caiaué, como, por exemplo, a provável resistência ou tolerância ao AF e às principais pragas e doenças da palma-de-óleo-africana, e mantendo a produtividade da espécie africana (Rios et al., 2012).

Nas diversas ações de pesquisas com o dendezeiro, destaca-se a clonagem in vitro de materiais elite, considerada uma importante ferramenta biotecnológica que permite a produção de linhas clonais de progênies retrocombinantes a ser utilizadas na ampliação da base genética testada nos cruzamentos de campo. Para o gênero *Elaeis*, assim como ocorre para a maioria de espécies de palmeiras, a técnica de clonagem in vitro envolvida e passível de produção massal é a embriogênese somática indireta. No entanto, para que essa forma de propagação seja possível, protocolos específicos devem ser estabelecidos, considerando as diferentes fases envolvidas e os requerimentos genótipo-dependentes.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de meios de cultura e auxinas na indução e proliferação de calos embriogênicos em embriões zigóticos de progênie RC1 (*E. oleifera* x *E. guineensis*) x *E. guineensis*).

## Material e Métodos

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas. Embriões zigóticos extraídos de sementes de retrocruzamentos RC1 ((OxG)xG) foram submetidos à assepsia e cultivados por 90 dias em meio de indução à calogênese, composto por sais e vitaminas de Murashige e Skoog (1962), e de Y3 (Eeuwens, 1976), suplementados com sacarose (3%), caseína hidrolisada ( $500 \text{ mg L}^{-1}$ ), glutamina ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), carvão ativado (0,25%), e as auxinas 2,4-D e picloram, ambos a  $450 \mu\text{M}$ . As culturas foram subcultivadas para meio de multiplicação e diferenciação de culturas embriogênicas de mesma composição basal, sendo a concentração do 2,4-D e picloram reduzidas para  $40 \mu\text{M}$  combinadas com 2iP (0 e  $10 \mu\text{M}$ ).

O ensaio foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 2$  (meios de cultura x reguladores de crescimento), com 5-6 repetições por tratamento, e a unidade experimental com cinco embriões cada. As placas foram mantidas em sala de crescimento de ambiente controlado, onde permaneceram na ausência de luz, sob temperatura de  $26 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  e umidade relativa do ar de 60%-70%.

As culturas foram subcultivadas a cada 30 dias, sendo o desenvolvimento inicial monitorado nas primeiras semanas (avaliação visual), e avaliadas ao final de 120 dias para a porcentagem de explantes com calos (avaliação fenotípica): Tipo I – Calos primários, Tipo II – Calos com características embriogênicas (estruturas nodulares/globulares) e Tipo III – Calos com características não embriogênicas (compactos ou estruturas anormais). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, sendo os dados previamente transformados em arco seno  $(x + 0,5/100)0,5$ .



## Resultados e Discussão

Quanto ao desenvolvimento inicial dos explantes, observou-se que os embriões zigóticos começaram a responder ao meio de indução à calogênese a partir de dez dias após a inoculação, quando apresentaram início de intumescimento. Ao final de 30 dias foram visíveis os primeiros calos primários, principalmente na região distal do explante, correspondente à região cotiledonar do embrião zigótico do gênero *Elaeis*. Os calos apresentaram coloração branco-amarelada e opaca, tamanho reduzido, formados por pequenas massas celulares aparentes, na maioria das vezes, após a expansão e rompimento e abertura da região da base (proximal) do explante.

Ao final da fase de multiplicação e diferenciação foi possível a caracterização das massas calosas de acordo com a coloração e três tipos de estruturas celulares visualizados. Os calos primários (Tipo I) apresentaram coloração clara e translúcida, constituídos de pequenos aglomerados celulares aparentemente mais organizados. Os calos com características embriogênicas (Tipo II) apresentaram coloração amarelo-clara a bege, com estruturas celulares maiores, de formato nodular e globular, que ocasionalmente se destacaram do calo. Os calos do Tipo III, de caráter não embriogênico, apresentaram estruturas compactas de coloração branca ou amarela, brilhantes e transparentes, de formato alongado, e nem sempre coesos.

Não houve interação dupla para a formação de calos, ou seja, não houve interação entre os fatores meios de cultura e reguladores de crescimento para os calos de Tipo III, não embriogênicos, com porcentagens que variaram entre 24% e 36,8%. Na formação de calos do Tipo I e II, por sua vez, foi observada diferença significativa entre as médias, alcançando valores superiores para ambos os meios na presença do regulador picloram, com destaque para o meio Y3 na calogênese primária (64%) (Tabela

1). A interação entre meio x regulador demonstra claramente que esse processo morfogênético é dependente, seja dos diferentes componentes nutritivos do meio de cultura, seja da sinalização hormonal proporcionada pelos reguladores de crescimento, para que ocorram as alterações que resultaram em processos que vão desde a indução até a rediferenciação de uma ou mais células, neste caso diferenciação em embriões somáticos.

No que diz respeito à análise dos fatores isoladamente, não houve efeito significativo dos meios de cultura MS e Y3 na formação de calos (Tabela 1). Mesmo considerando a complexidade e diferença existente na composição desses meios, pode-se atribuir aos reguladores de crescimento maior influência nesse processo embriogênico, assim como observado por Thuzar et al. (2011) em estudo de indução de calogênese com *Elaeis guineensis*, devido à forte pressão das auxinas na reprogramação e aquisição de competências nas células dos explantes.

**Tabela 1.** Formação de calos a partir de embriões zigóticos obtidos de cruzamentos de RC1 (*E. oleifera* x *E. guineensis*) x *E. guineensis*, após 120 dias em função da composição dos meios de cultura (MS e Y3) e das auxinas 2,4-D e picloram (Pic), em que: Tipo I – Calo primário; Tipo II – Embriogênico (nodular/globular); e Tipo III – Não embriogênico. Manaus, 2017.

	Tipo I (%)			Tipo II (%)			Tipo III (%)		
	2,4-D	Pic	Média	2,4-D	Pic	Média	2,4-D	Pic	Média
MS	36,0 Aa	40,0 Ab	38,0 a	8,0 Ba	32,0 Aa	20,0 a	24,0 a	28,0 a	26,0 a
Y3	20,0 Ba	64,0 Aa	42,0 a	8,0 Ba	37,6 Aa	22,8 a	24,0 a	36,8 a	30,4 a
<b>Média</b>	<b>28,0 B</b>	<b>52,0 A</b>		<b>8,0 B</b>	<b>34,8 A</b>		<b>24,0 A</b>	<b>32,4 A</b>	

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre colunas e minúscula entre linhas, não diferem estatisticamente entre si (Tukey  $p > 0,05$ ).

Nessa fase da embriogênese somática, em que ocorre a diferenciação das células com características embriogênicas, o picloram mostrou-se superior ao 2,4-D para todas as tipologias embriogênicas, com exceção para calos não embriogênicos (Tabela 1), promovendo maior indução de calos de caráter primário, nodular

e globular. Essa superioridade do picloram em relação ao 2,4-D, nos processos embriogênicos, também é descrita em estudos com algumas palmeiras da família *Arecaceae*, tais como *Areca catechu* (Karun et al., 2004), *Bactris gasipaes* (Steinmacher et al., 2007) e *Acrocomia aculeata* (Moura et al., 2008). Segundo Fitch e Moore (1990), esse comportamento pode estar associado a uma efetiva absorção e mobilização dessa auxina, com a rápida metabolização nas células-alvo.

Apesar da ampla variação na porcentagem de calos embriogênicos do Tipo II induzidos, entre 8,0% e 37,6%, a modificação no balanço hormonal no meio de cultura, com a redução das auxinas e a suplementação com 2iP a 10  $\mu\text{M}$ , contribuíram fortemente para a determinação da resposta desse processo morfogenético, estimulando o crescimento e a diferenciação de setores dos calos em globulares e/ou nodulares. Steinmacher et al. (2007) e outros autores, por sua vez, concordam que em palmeiras mais especificamente, após a indução, a transferência das culturas para meio com auxina em menor concentração constitui-se em fator-chave para a diferenciação e posterior desenvolvimento dos embriões somáticos (Karun et al., 2004; Steinmacher et al., 2007).

## Conclusões

A formação de calos embriogênicos, em embriões zigóticos RC1 ((OxG)xG), é dependente da combinação meio de cultura e regulador de crescimento, sendo mais fortemente influenciada pelas auxinas 2,4-D e picloram na proliferação e diferenciação de estruturas embriogênicas. Os meios de cultura MS e Y3 suplementados com 2,4-D ou picloram induziram satisfatoriamente a formação de calos primários ao final de 90 dias de cultivo. Dessas combinações, deduziu-se que o meio de cultura suplementado com 2iP e a auxina picloram a 40  $\mu\text{M}$  favoreceu a multiplicação de

calos primários, assim como a formação de estruturas de potencial embriogênico, seja em meio basal MS, seja em Y3.

## Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), pela concessão da bolsa do Programa de Apoio a Iniciação Científica do Amazonas (Paic-AM).

## Referências

EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera* L.) and culture in vitro. **Physiologia Plantarum**, v. 36, p. 23-28, 1976.

FITCH, M. M. M.; MOORE, P. H. Comparison of 2,4-D and picloram for selection of long-term totipotent green callus of sugarcane. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 20, p. 157-163, 1990.

KARUN, A.; SIRIL, E. A.; RADHAM, E.; PARTHASARATHY, V. A. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of areca nut (*Areca catechu* L.). **Current Science**, v. 86, p. 1623-1628, 2004.

MOURA, E. F.; VENTRELLA, M. C.; MOTOIKE, S. Y.; SÁ JÚNIOR, A. Q.; CARVALHO, M.; MANFIO, C. E. Histological study of somatic embryogenesis induction on zygotic embryos of macaw palm (*Acrocomia aculeate* (Jacq.) Lodd. ex Martius). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 95, n. 2, p. 175-184, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

RIOS, S. de A.; CUNHA, R. N. V. da; LOPES, R.; BARCELOS, E. **Recursos genéticos de palma-de-óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) e caiaué (*Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortés)**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012. 39 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 96).

STEINMACHER, D. A.; CANGAHUALA-INOCENTE, G. C.; CLEMENT, C. R.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis from peach palm zygotic embryos. **In Vitro Cellular and Development Biology – Plant**, v. 43, p. 124-132, 2007.

THUZAR, M.; VANAVICHIT, A.; TRAGOONRUNG, S.; JANTASURIYARAT, C. Efficient and rapid plant regeneration of oil palm zygotic embryos cv. 'Tenera' through somatic embryogenesis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 123-128, 2011.